Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 16, No. 1, Apr. May. 2020, p. 131- 143

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 16، شماره 1،فروردین -اردیبهشت 1399 ص.143-131

بررسی تاثیر افزودن دو صمغ لوبیای خرنوب و زانتان بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و ظرفیت نگهداری آب ماست سین‌بیوتیک شتر

ژاله سادات لاجوردی[1]- محمد سعید یارمند[2]- زهرا امام جمعه[3*] - امیر نیاسری نسلجی[4]

تاریخ دریافت: 1394/07/15
تاریخ پذیرش: 1395/10/20

چکیده

در این تحقیق تاثیر دو صمغ زانتان و لوبیای خرنوب بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی ماست فراسودمند سین‌بیوتیک از شیر شتر به همراه β-گلوکان استخراج شده از جو دوسر مورد مطالعه قرار گرفت. متغیرهای مورد بررسی شامل: صمغ لوبیای خرنوب (LBG) و صمغ زانتان (به نسبت 1:1) هر کدام در سه سطح 0/1، 0/2 و 0/3 % و β-گلوکان در سه سطح 1/5، 2 و 2/5% به شیر با درصد چربی مشخص (1/9%) و باکتری‌های پروبیوتیک تلقیح شده به میزان (0/5%) افزوده شد. نتایج طبق روش آماری سطح پاسخ در روزهای اول، هفتم و چهاردهم مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مطابق با نتایج این بررسی ظرفیت نگهداری آب، با افزایش میزان صمغ‌ها (0/2%) و β-گلوکان (1/73%) افزایش یافته ولی گذشت زمان موجب کاهش آن می‌گردد. در صورتی که از درصدهای بالای β-گلوکان (1/6%) در تولید ماست فراسودمند سین‌بیوتیک استفاده شود، در روزهای اولیه تولید (از اولین روز تولید تا روز هفتم)، ماست حاوی تعداد مطلوبی از باکتری های زنده پروبیوتیک (10^7 × 8/2 تا 10^7 × 6 cfu/mL) است. ماست فراسودمند سین‌بیوتیک تولید شده از شیر شتر دارای ویژگی‌های فیزیکی مطلوب و بافت بسیار مناسبی است و بر اساس مواد مصرفی، دارای اثرات مطلوبی بر سلامتی مصرف‌کنندگان می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: صمغ زانتان، صمغ لوبیای خرنوب، β-گلوکان، شیر شتر، ماست

مقدمه

امروزه با افزایش آگاهی و اطلاعات مصرف‌کنندگان و آشنایی بیشتر آنها با مضرات غذاهای ناسالم مصرفی، درخواست برای محصولات گیاهی و با ارزش غذایی بالا که بتواند جایگزین مواد مضر گردد، افزایش یافته است. در این پژوهش به بررسی اثر دو صمغ لوبیای خرنوب (LBG)[5] و صمغ زانتان به همراه β-گلوکان در تولید ماست فراسودمند سین‌بیوتیک از شیر شتر پرداخته شده است. صمغ (LBG) از لوبیای لوکاست یا دانه خرنوب به‌دست می‌آید و از آن جهت ایجاد گرانروی[6] و اتصال و پایداری در سامانه‌های مختلف غذایی نظیر ماست، بستنی، سوسیس‌ها و غیره استفاده می‌شود (Nasirpour, 2013; Hansen, 1993).

صمغ زانتان یک پلی‌ساکارید خارج سلولی بوده که توسط *زانتاموناس کامپستریس*[7] طی فرآیند تخمیر هوازی تولید می‌شود. زانتان در آب سرد محلول بوده و محلول‌های ایجاد شده به شدت سودوپلاستیک هستند (Jasim *et al*., 2004). زانتان واکنش‌های هم افزایی با صمغ گوار و LBG دارد، به‌طوریکه در غلظت‌های کم در حضور LBG گرانروی افزایش می‌یابد (Ramirez-Figueroa et al., 2002; Marcotte, *et al*., 2001; Garcia-Ochoa *et al*., 2000; Urlacher *et al*., 1997). خاصیت سودوپلاستیسیته صمغ زانتان باعث می شود مواد غذایی احساس دهانی بهتری داشته باشند. این صمغ با تاثیرات مطلوبی که بر مواد غذایی دارد، باعث می گردد که محصولات کیفیت اولیه خود را بهتر حفظ کند.

اثرات هم‌افزایی بین زانتان وگالاکتومانان‌ها از قبیلLBG موجب افزایش گرانروی و یا تشدید ژله‌ای شدن می‌شود. به دلیل اینکه LBG نسبت مانوز به گالاکتوز آن در حدود 3/5 به 1 است با شدت زیادی با زانتان واکنش می‌دهد (Campolongo *et al*., 2005).

1، 2 و 3- به‌ترتیب دانش‌آموخته، دانشیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.
4- استاد، گروه علوم پایه، دانشکده درمانگاهی، دانشگاه تهران دامپزشکی.
(* - نویسنده مسئول: Email: emamj@ut.ac.ir)
DOI: 10.22067/ifstrj.v1395i0.50416
5 Locust Bean Gum
6 Viscosity
7 Compestris Xanthomonas

بر اساس نتایج به‌دست آمده از تحقیقات لاجوردی و همکاران (1393) بر روی ماست قالبی سین‌بیوتیک از شیر شتر، ماست تولیدی دارای بافت بسیار مناسبی نبود و می‌بایست در تحقیقات آینده این مشکل حل می‌شد بنابراین جهت حل این مشکل در این پژوهش از صمغ زانتان به همراه صمغ لوبیای خرنوب (LBG) مشابه تحقیقات (El-Sayed *et al.*, 2002; Figueroa *et al.*, 2002) جهت بهبود بافت محصول تولیدی استفاده شد. همانطور که در کلیات توضیح داده شد و طبق نتایج Hansen (1993) صمغ لوبیای خرنوب به‌عنوان صمغ کمکی در کنار صمغ‌های دیگر (مخصوصا صمغ زانتان) موجب بهبود بیشتر گرانروی و آب‌اندازی محصول می‌گردد. از طرف دیگر به‌دلیل اینکه در آزمایشات بعدی قصد بهبود طعم و خواص حسی محصول مد نظر گرفته شده است، از صمغ لوبیای خرنوب استفاده کردیم زیرا بر اساس تحقیقات Decourcellea و همکاران (2004) این صمغ از توانایی بالایی در نگهداری عطر و طعم برخوردار می‌باشد.

در این مطالعه سعی بر آن بوده تا با استفاده از β-گلوکان جو دوسر به همراه تلقیح مقدار مناسبی از باکتری‌های پروبیوتیک به شیر شتر، یک محصول لبنی فراسودمند سین‌بیوتیک تولید شود. در این محصولات شیر شتر به‌عنوان ماده اصلی و پایه می‌باشد، بنابراین این محصول دارای ارزش تغذیه‌ای بالا به دلیل وجود ترکیباتی از قبیل: ماده شبه انسولین، لاکتوز کمتر، ایمونوگلوبولین‌ها و لاکتوفرین، آنتی‌اکسیدان‌ها و عوامل ضدمیکروبی و سایر مواد مغذی دیگر می‌باشد (لاجوردی و همکاران، 1393؛ نیاسری نسلجی و همکاران، 1390). همانطور که در قبل گفته شد با تولید ماست سین‌بیوتیک می‌توان یک محصول فراسودمند را به سبد تغذیه مردم وارد کرد. ماست سین‌بیوتیک از ترکیب باکتری‌های پروبیوتیک به همراه عوامل پری‌بیوتیک تولید می‌گردد، به‌طوریکه می‌بایست در محصول نهایی حدود 10^7 -10^8 cfu/mL از باکتری‌ها به‌صورت زنده مورد استفاده قرار گیرند تا اثرات سلامت‌بخش در میزبان خود بروز دهند (فرجی و همکاران، 1391). β-گلوکان که یک کربوهیدرات پیچیده غیرقابل هضم (Theuwissen *et al.*, 2008) با خواص تغذیه‌ای بسیار زیاد از جمله: بهبود فعالیت روده‌ها (وظیفه فیبرها)، محرک سامانه ایمنی بدن، مقوی قلب، کاهش کلسترول و قند خون (Xue *et al.*, 2013; Chao *et al.*, 2013)، را به‌عنوان عامل پری‌بیوتیک و بهبوددهنده بافت مورد استفاده قرار گرفته و موجب بهبود فعالیت ریزاندامگان روده‌ای شده و زنده‌مانی آن‌ها را افزایش می‌دهند و در نتیجه تاثیر خوبی بر سلامت مصرف کننده دارند (لاجوردی و همکاران، 1393)

در این مطالعه هدف بر آن بوده تا تاثیر دو صمغ زانتان و لوبیای خرنوب را بر خصوصیات شیمیایی و بافت ماست به‌دست آمده از شیر شتر بررسی کنیم. در این تحقیق سعی شد با استفاده از β-گلوکان جو دوسر به همراه تلقیح مقدار مناسبی از باکتری‌های پروبیوتیک، محصولی با کیفیت بافتی بسیار مطلوب و خواص غذایی مناسب در دسترس مصرف‌کنندگان قرار داده شود. ماست تولیدی علاوه بر ظرفیت نگهداری آب بالا و بافت مناسب، به دلیل وجود تعداد مناسب باکتری‌های پروبیوتیک در زمان مصرف و سایر افزودنی‌های با خواص سلامت‌بخشی بالا از قبیل β-گلوکان جو دوسر و صمغ‌ها در محصول، دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

شیر شتر مورد استفاده با ترکیبات مشخص (جدول 1) از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. کارخانه پگاه تهران آغازگر پروبیوتیک تجاری (ABY1, Cristian Hansen, Hørsholm, Denmark) و همچنین صمغ زانتان و صمغ لوبیای خرنوب (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) در اختیار این پژوهش قرار داد. جو دو سر از موسسه تهیه و فرآوری گیاهان دارویی طارونه استان قم خریداری شد و β-گلوکان را طبق روش (Moura *et al.*, 2011) از جو دوسر استخراج کردیم.

جدول 1- آنالیز شیمیایی شیر شتر

فاکتور	ماده خشک (%)	خاکستر (%)	پروتئین (%)	لاکتوز (%)	چربی (%)	pH	اسیدیته (g/L)
مقدار	9±0/01	0/9±0/001	2/7±0/01	3/1±0/01	4/1±0/01	≈ 6/49	3/06±0/001

آنالیز شیمیایی شیر شتر در سه تکرار (n=3) و در سطح اطمینان 0/05 (P=0.05) انجام شد.

تهیه ماست

برای تهیه نمونه، ابتدا شیر شتر بر اساس بهینه درصد چربی تحقیقات لاجوردی و همکاران (1393)، در سطح چربی 1/9% آماده گردید. صمغ لوبیای خرنوب (LBG) و زانتان به نسبت 1:1 به‌عنوان عامل بافت‌دهنده در سه سطح 0/1، 0/2 و 0/3% به همراه درصدهای 1/5، 2 و 2/5% از β-گلوکان مطابق طرح آزمایش جدول 2 به شیر افزوده شد و توسط یکنواخت‌کننده اولتراتراکس (T25, IKA, Staufen, Germany) با سرعت 9000 دور در دقیقه به مدت 90 ثانیه همگن شدند. بر شیر شتر همگن شده با افزودنی‌های ذکر شده عمل پاستوریزاسیون به مدت 15 دقیقه و با دمای 1 ±75 °C انجام

پذیرفت و آغازگر تجاری حاوی ریزاندامگان پروبیوتیک و پس از خنک شدن شیر تا دمای 1℃ ±42 در سطح 0/5% طبق بهینه شرایط تحقیقات قبلی (لاجوردی و همکاران، 1393) افزوده شد و سپس به ظروف 50 میلی‌لیتری منتقل و گرمخانه‌گذاری شد. بعد از رسیدن نمونه‌ها به pH= 4/6 به یخچال در دمای 1℃±4 انتقال داده شدند. در روزهای اول، هفتم و چهاردهم آزمایشات لازم بر روی ماست‌های تولیدی انجام گرفت.

جدول 2- طرح آزمایش شیر شتر به همراه صمغ زانتان و صمغ لوبیای خرنوب

نمونه	صمغ زانتان (٪)	صمغ لوبیای خرنوب (٪)	β-گلوکان (%)	زمان (روز)
1	0/2	0/2	2/5	7
2	0/1	0/3	1/5	0
3	0/2	0/2	2	14
4	0/2	0/2	2	7
5	0/2	0/2	2	7
6	0/2	0/2	2	7
7	0/2	0/2	2	7
8	0/3	0/1	1/5	0
9	0/3	0/3	1/5	14
10	0/2	0/3	2	7
11	0/2	0/2	2	7
12	0/1	0/1	1/5	14
13	0/2	0/1	2	7
14	0/3	0/3	1/5	0
15	0/1	0/3	1/5	14
16	0/3	0/3	2/5	0
17	0/2	0/2	2	7
18	0/1	0/3	2/5	0
19	0/1	0/1	1/5	0
20	0/3	0/1	2/5	0
21	0/1	0/1	2/5	14
22	0/2	0/2	2	0
23	0/2	0/2	1/5	7
24	0/2	0/2	2	7
25	0/1	0/3	2/5	14
26	0/3	0/1	2/5	14
27	0/3	0/3	2/5	14
28	0/3	0/1	1/5	14
29	0/1	0/1	2/5	0
30	0/2	0/2	2	7
31	0/2	0/2	2	7

تعیین ظرفیت نگهداری آب[1]

جهت بررسی ظرفیت نگهداری آب محصولات، 5 گرم از نمونه را در یک فالکون 15 میلی‌لیتری ریخته و سپس به مدت 30 دقیقه در دمای $10^{\circ C}$ با سرعت4500 دور در دقیقه توسط دستگاه (Mikro 220R, Hettich, Tuttlingen, Germany) سانتریفوژ شد. WHC از طریق رابطه 1 با دانستن مقدار فاز رویی جدا شده محاسبه گردید (Sahan *et al*. 2008).

$$WHC = \left(1 - \frac{W_t}{W_i}\right) \times 100 \qquad (1)$$

که در رابطه 1 W_t، وزن فاز رویی (g) و W_i، وزن نمونه اولیه ماست (g) می‌باشد.

بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

برای یافتن میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات تولیدی 1 گرم از نمونه را با 9 میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی (محلول 0/9% (w/v) نمک (NaCl)) مخلوط و یکنواخت کرده، پس آن محلول‌ها را تا غلظت‌های 10^{-6} و 10^{-7} رقت‌سازی شد. جهت کشت 1 میلی‌لیتر از هر رقت را در 2 تکرار در پلیت حاوی محیط کشت MRS-Agar (Merck, Darmstadt, Germany) به همراه 0/15درصد صفرای گاوی[2] (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA) منتقل نموده. نمونه‌های کاملا مخلوط شده در محیط کشت، به مدت 72 ساعت در دمای ($37 \pm 1^{\circ C}$) گرمخانه‌گذاری شد. شمارش کلنی‌های رشد کرده در محیط کشت، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده مانده در نمونه را طی مدت زمان نگهداری مشخص می‌کند (لاجوردی و همکاران، 1393؛ فرجی و همکاران، 1391).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل آماری داده ها از روش سطح پاسخ (RSM) و جدول تجزیه واریانس (α<0/05) در سه تکرار، از طریق نرم‌افزار Design Expert 8 استفاده شد. طرح آماری آزمایش مطابق جدول 2 به صورت مربع مرکزی (CCD) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

بررسی میزان ظرفیت نگهداری آب (WHC)

ظرفیت نگهداری آب ماست، در واقع توانایی بافت ماست جهت ممانعت از خروج آب از داخل محصول و مهاجرت به سطح آن می‌باشد. ساختار شبکه سه بعدی پروتئینی وظیفه اصلی نگهداری و به دام انداختن مولکول‌های آب در محصول را بر عهده دارد (Bahrami *et al*., 2013). مدل پیشنهاد شده معنی‌دار جهت بررسی میزان ظرفیت نگهداری آب در محصول تولیدی، مدل درجه دوم می‌باشد. این مدل به دلیل داشتن ضریب تبیین بالا (R^2 = 0/97) و همچنین ضریب تبیین اصلاح شده بسیار مناسب (R^2-Adj= 0/95) مدل توجیه پذیری می باشد.

$$WHC (\%)= +60.70+ (5.76\times A)+ (3.58\times B)+ (1.14\times C)- (5.31\times D)+ (1.63\times A\times B)- (1.76\times A\times C)- (1.64\times A\times D)+ (0.48\times B\times C)+ (1.39\times B\times D)+ (0.77\times C\times D)- (5.08\times A^2)- (0.66\times B^2)+ (3.92\times C^2)- (1.76\times D^2) \qquad (2)$$

در این رابطه A، B، C و D به‌ترتیب بیانگر درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد پری‌بیوتیک (β-گلوکان) و مدت زمان نگهداری می‌باشد.

جدول 3- جدول ANOVA جهت بررسی تغییرات WHC

فاکتورها	ضریب	درجه آزادی	p-value
مدل	60/70	14	<0/0001 *
A-صمغ زانتان	5/76	1	<0/0001 *
B-صمغ لوبیای خرنوب	3/58	1	<0/0001 *
C- پری بیوتیک	1/14	1	0/0066 *
D-زمان	-5/31	1	<0/0001 *
AB	1/63	1	0/0007 *
AC	-1/76	1	0/0003 *
AD	-1/64	1	0/0006 *
BC	0/48	1	0/2333 ns
BD	1/39	1	0/0025 *
CD	0/77	1	0/0660 ns
A^2	-5/08	1	<0/0001 *
B^2	-0/66	1	0/5024 ns
C^2	-3/92	1	0/0009 *
D^2	-1/76	1	0/0863 ns
عدم برازش	-	10	0/3362 ns
خطا	-	16	-

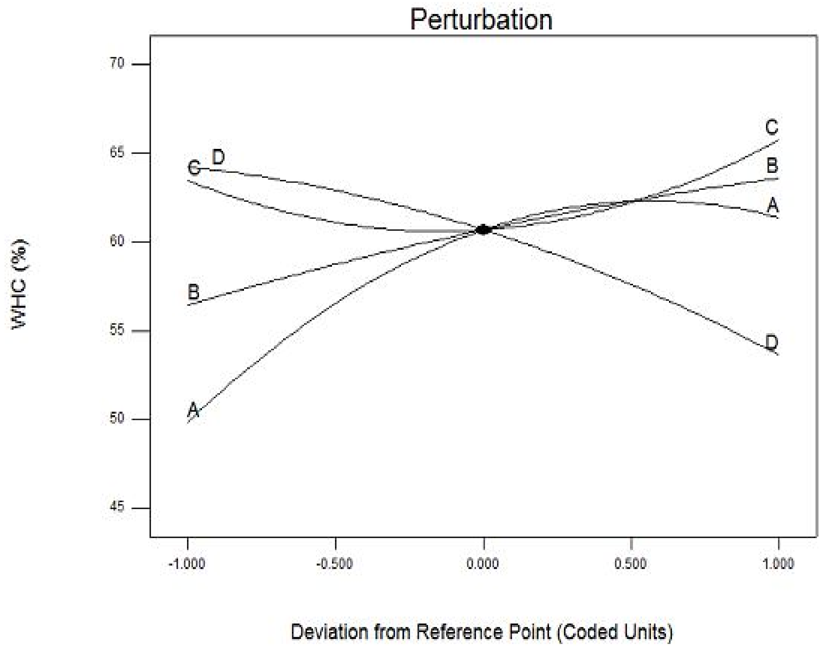
* معنی‌دار در سطح 0/05 و ns غیرمعنی‌دار

طبق جدول 3 تغییرات درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد β-گلوکان و گذشت زمان تاثیر معنی‌داری بر میزان WHC دارند. همانطور که در شکل 1 مشاهده می‌کنید با افزایش درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد صمغ زانتان و درصد β-گلوکان، میزان WHC افزایش معنی‌داری پیدا کرده است ولی گذشت زمان موجب کاهش WHC می‌گردد که مشابه نتایج (لاجوردی و همکاران، 1393; Sahan *et al*. 2008) می‌باشد.

---

1 Water Holding Capacity (WHC)

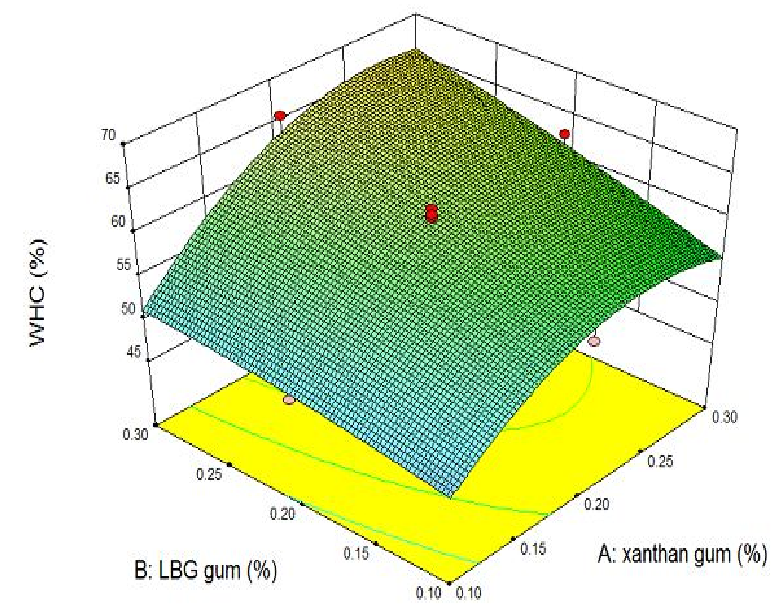
2 Bile-Bovin



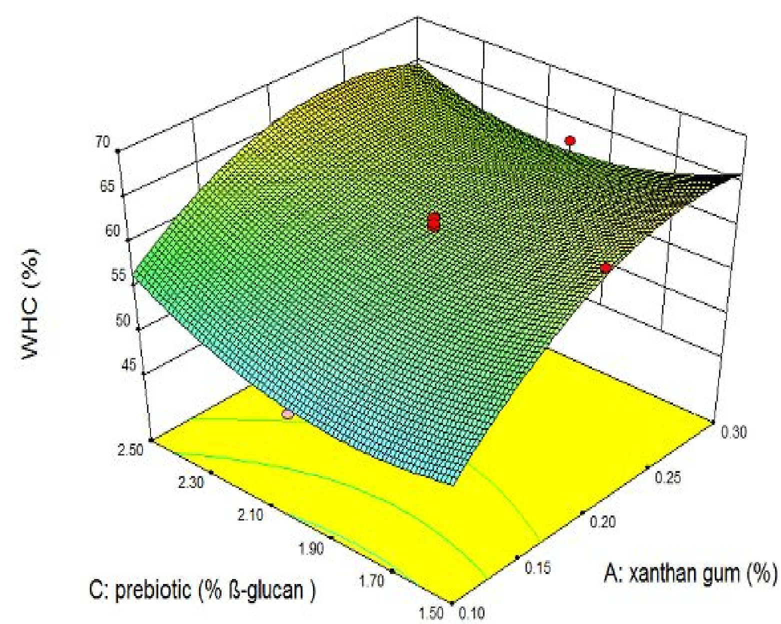
شکل 1- نوع و میزان تاثیر فاکتورهای مختلف بر تغییرات WHC ماست به‌دست آمده از شیر شتر.
A، B، C و D به‌ترتیب بیانگر درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد پری‌بیوتیک (β-گلوکان) و مدت زمان نگهداری

طبق شکل سه بعدی شماره 2 با افزایش درصد صمغ زانتان و درصد صمغ لوبیای خرنوب در محصول تولیدی، ظرفیت نگهداری آب در ماست افزایش پیدا کرده به‌طوریکه بیشترین قابلیت نگهداری آب در محصولات با بیشترین درصد صمغ لوبیای خرنوب و صمغ زانتان مشاهده می‌شود. در واقع محصولاتی که با این شرایط تولید می‌شوند آب‌اندازی کمتری دارند. همچنین طبق شکل 3 با افزایش درصد صمغ زانتان و β-گلوکان ظرفیت نگهداری آب افزایش یافته است. این فاکتورها (صمغ لوبیای خرنوب و صمغ زانتان، صمغ زانتان و β-گلوکان) دو به دو دارای تاثیر هم‌افزایی بر هم هستند، به‌طوریکه در این مطالعه، مشابه نتایج (El-Sayed *et al*., 2002; Lucey, 2002)، بیشترین میزان ظرفیت نگهداری آب، در بالاترین درصد صمغ زانتان و صمغ LBG و همچنین در بالا ترین درصد صمغ زانتان و β-گلوکان مشاهده می‌شود (Kearney *et al*., 2011) و این موضوع معنی‌دار بودن مدل درجه دوم جهت پیش‌بینی تغییرات WHC را توجیه می‌کند. تاثیرات رخ داده در محصول، به دلیل جذب و نگهداری آب در شبکه پروتئین- پلی‌ساکاریدی که تشکیل شده توسط این دو صمغ و β-گلوکان و با همکاری میسل‌های کازئین شیر شتر می‌باشد (Langendorff *et al*., 1999; Langendorff *et al*., 1997; Maroziene *et al*., 2000; Syrbe *et al*., 1998) که در نتیجه صمغ‌ها و شبکه ایجاد شده مولکول‌های آب را درون ساختار خود و شبکه ساخته شده به دام می‌اندازند و از خروج آب محصول ممانعت به عمل آورده و ظرفیت نگهداری آب ماست تولیدی را افزایش می‌دهند (Lucey, 2002; sanchez *et al*., 2000). در تحقیقات دیگر از جمله Purwandari و همکاران (2017)، Guzel-Seydim و همکاران (2005) و Robitaille و همکاران (2009)نیز به نتایج مشابه این تحقیق رسیدند و در یافتند وجود β-گلوکان و صمغ‌ها موجب افزایش قدرت بافت ماست جهت ممانعت از خروج آب می‌گردد و یا به عبارتی ظرفیت نگهداری آب در محصول افزایش پیدا می‌کند.

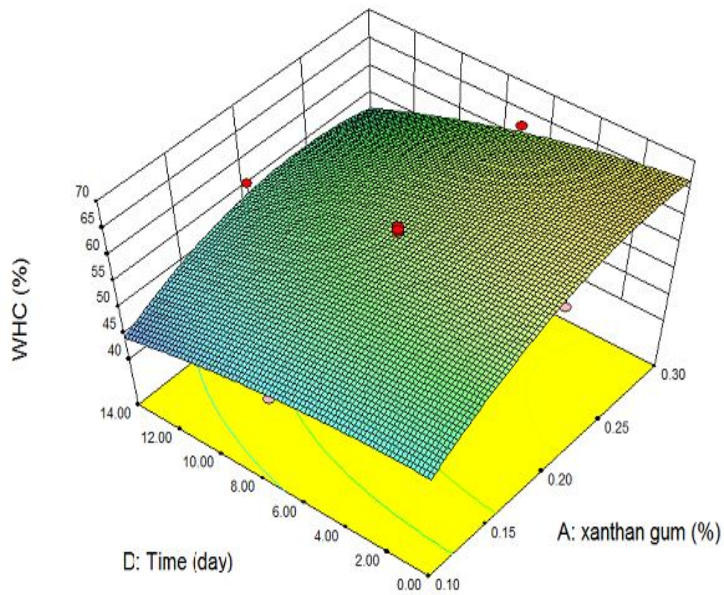
شکل 4 و 5 تاثیر معنی‌دار متقابل زمان با صمغ زانتان و صمغ لوبیای خرنوب را بر تغییرات WHC نشان می‌دهد. همانطور که در شکل‌های زیر مشاهده می‌شود بیشترین مقدار نگهداری آب در بافت نمونه، در بیشترین مقدار صمغ‌ها و اولین روزهای تولید محصول مشاهده می‌شود. به این دلیل که در روزهای اولیه تولید محصول (حدود 4 روز بعد از تولید) با افزایش مقدار صمغ به‌کار رفته در تولید ماست، WHC نسبت به اواخر دوره نگهداری افزایش بیشتری می‌یابد. دلیل این تغییرات را می‌توان به هیدراته شدن زیاد صمغ‌ها در طی نگهداری دانست که این امر موجب مستحکم‌تر شدن بافت می‌گردد و با گذشت زمان و سفت‌تر شدن بافت ماست آب محبوس شده، از شبکه ایجاد شده خارج می‌گردد و آب‌اندازی افزایش پیدا کرده و ظرفیت نگهداری آب محصول کاهش می‌یابد (Van-Vliet *et al*.,1991).



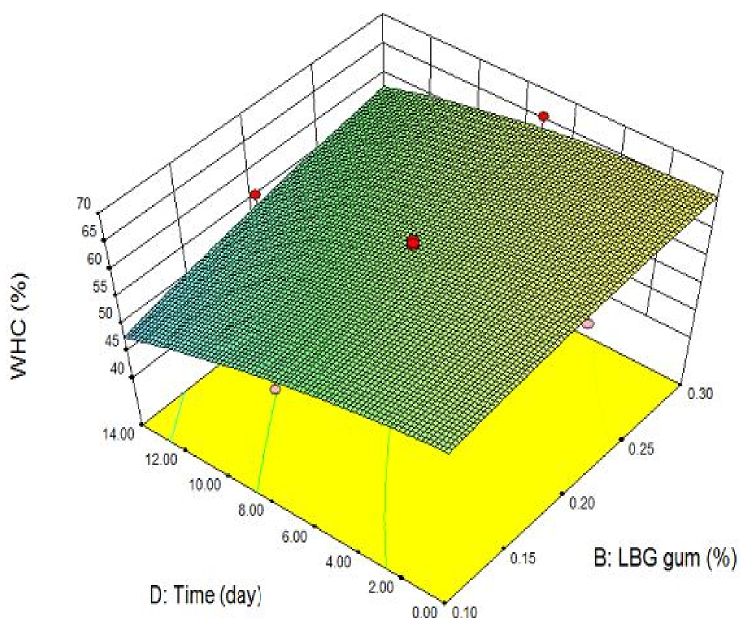
شکل 2- نمودار سه‌بعدی بررسی تغییرات WHC بر اثر تغییر درصد صمغ زانتان و درصد صمغ لوبیای خرنوب



شکل 3- نمودار سه‌بعدی بررسی تغییرات WHC بر اثر تغییر درصد صمغ زانتان و درصد β-گلوکان



شکل 4- نمودار سه‌بعدی بررسی تغییرات WHC بر اثر تغییر درصد صمغ زانتان و مدت زمان نگهداری



شکل 5- نمودار سه‌بعدی بررسی تغییرات WHC بر اثر تغییر درصد صمغ لوبیای خرنوب و مدت زمان نگهداری

بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

مدل پیشنهادی جهت تغییرات زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها، مدل درجه دوم با ضریب تبیین بالا (R^2= 0/98) و ضریب تبیین اصلاح شده بسیار خوب (R^2-Adj= 0/99) می‌باشد.

$$\text{Bac. count } (10^6 \text{ cfu/mL})= +65.06+ (0.72\times A)-(0.83\times B)+ (10.11\times C)- (35.94\times D)+ (0.44\times A\times B)+(0.81\times A\times C)+ (0.94\times A\times D)- (0.44\times B\times C)- (0.062\times B\times D) + (0.063\times C\times D)- (1.31\times A^2)- (3.31\times B^2)- (0.81C^2)-(3.31\times D^2) \quad (3)$$

در این رابطه A، B، C و D به‌ترتیب بیانگر درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد پری‌بیوتیک (β-گلوکان) و مدت زمان نگهداری می‌باشد.

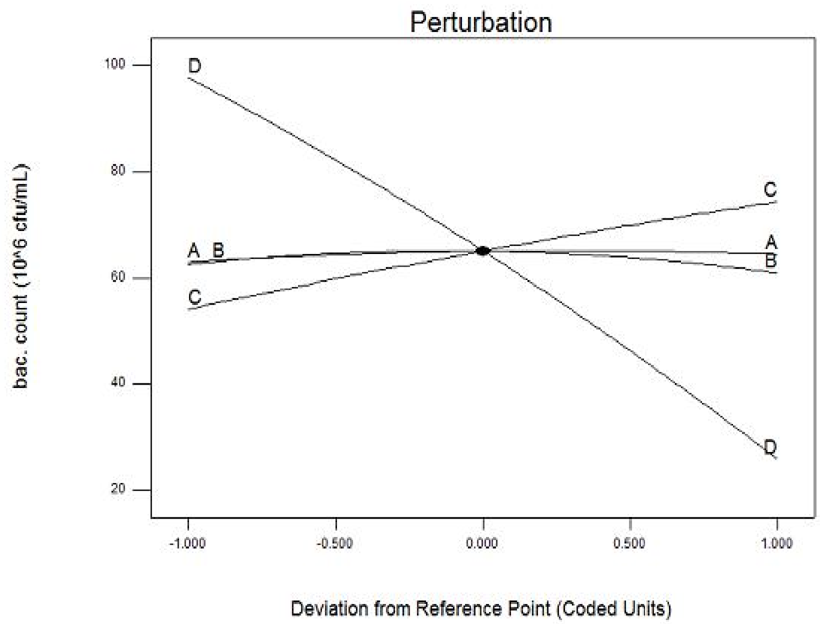
جدول 4- جدول ANOVA جهت بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

فاکتورها	ضریب	درجه آزادی	p-value
مدل	65/06	14	<0/0001 *
A- صمغ زانتان	0/72	1	0/0913 ns
B- صمغ لوبیای خرنوب	-0/83	1	0/0547 ns
C- پری‌بیوتیک	10/11	1	<0/0001 *
D-زمان	-35/94	1	<0/0001 *
AB	0/44	1	0/3201 ns
AC	0/81	1	0/0748 ns
AD	0/94	1	0/0429 *
BC	-0/44	1	0/3201 ns
BD	-0/062	1	0/8853 ns
CD	0/063	1	0/8853 ns
A^2	-1/31	1	0/2354 ns
B^2	-3/31	1	0/0066 *
C^2	-0/81	1	0/4579 ns
D^2	-3/31	1	0/0066 *
عدم برازش	-	10	0/4536 ns
خطا	-	16	-

* معنی‌دار در سطح 0/05 و ns غیرمعنی‌دار

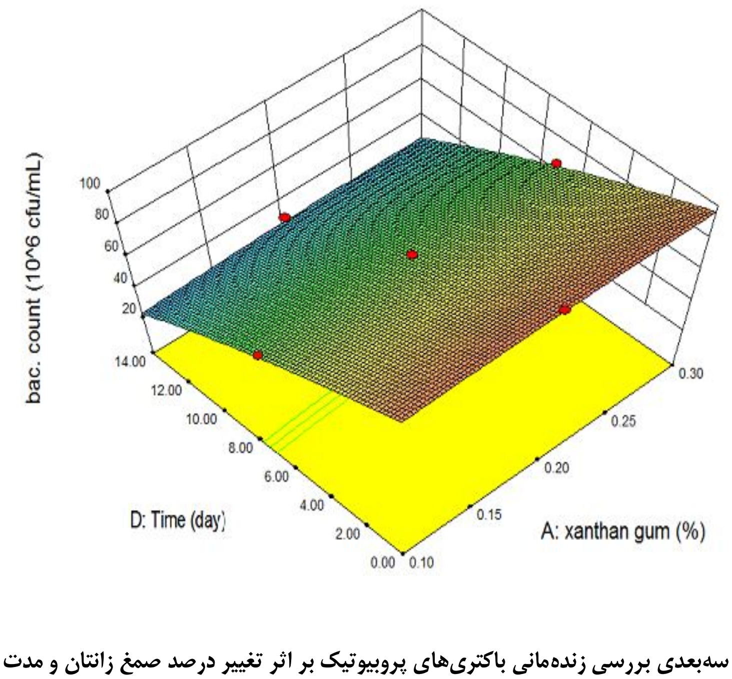
با توجه به جدول 4 و همچنین طبق شکل 6 تغییر در درصد صمغ زانتان و درصد صمغ لوبیای خرنوب اثر معنی‌داری بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک ندارند و عوامل مؤثر بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک میزان β-گلوکان و گذشت زمان می‌باشد.

جهت پی بردن به نوع و میزان تاثیر فاکتورهای مختلف بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌توان به شکل 6 مراجعه نمود. همانطور که مشاهده شد با افزایش میزان β-گلوکان به‌عنوان عامل پری‌بیوتیک زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک موجود در ماست افزایش پیدا کرد و این افزایش زنده‌مانی به دلیل افزایش غذای مورد نیاز باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد (Kearney *et al.*, 2011). طبق نتایج ذکر شده، شرایط محیطی مناسبی جهت رشد و فعالیت بیشتر و بهتر این ریزاندامگان فراهم شده و در محصول نهایی تعداد بیشتری از باکتری‌های پروبیوتیک مشاهده می‌شود (لاجوردی و همکاران، 1393). گذشت زمان تاثیر معکوسی بر زنده‌مانی باکتری‌ها دارد زیرا در طی مدت نگهداری مواد مورد نیاز جهت رشد و فعالیت باکتری‌ها در محیط کاهش یافته در نتیجه از میزان باکتری‌های زنده در ماست تولیدی کاسته می‌شود (لاجوردی و همکاران، 1393 و فرجی و همکاران، 1391) که بر اثر ایجاد این شرایط نامطلوب در ماست تولیدی، با گذشت زمان از تعداد باکتری‌های پروبیوتیکی که در محصول حضور دارند کاسته می‌شود.



شکل 6- نمودار نوع و میزان تاثیر فاکتورهای مختلف بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک ماست به‌دست آمده از شیر شتر.
A، B، C و D به‌ترتیب بیانگر درصد صمغ زانتان، درصد صمغ لوبیای خرنوب، درصد پری‌بیوتیک (β-گلوکان) و مدت زمان نگهداری

شکل 7 تاثیر متقابل دو فاکتور صمغ زانتان و زمان را بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها نشان می‌دهد. همانطور که انتظار می‌رفت بهترین شرایط برای باکتری‌های پروبیوتیک درصد بالای صمغ زانتان در روزهای اولیه نگهداری محصول می‌باشد (Norton *et al.*, 1990; Sanderson, 1990).



شکل 7- نمودار سه‌بعدی بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک بر اثر تغییر درصد صمغ زانتان و مدت زمان نگهداری

با توجه به نتایج به‌دست آمده در می یابیم که وجود صمغ‌ها از جمله صمغ زانتان مشابه نتایج (El-Salam *et al*., 1996; Hematyar *et al*., 2012) هیچ‌گونه تاثیزی سویی بر رشد و فعالیت باکتری‌های مفید ماست نداشته بلکه با گذشت زمان به علت ایجاد شرایط محیطی مطلوب، موجب رشد و فعالیت بهتر آنها می‌گردند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل شده از پژوهش فوق در می یابیم که β-گلوکان استخراجی از جو دوسر موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب در محصول می‌شود. β-گلوکان به دلیل خواص پری‌بیوتیکی خود، به‌عنوان غذای باکتری‌های پروبیوتیک عمل کرده و زنده‌مانی این میکروارگانیسم‌ها را در محصول افزایش می‌دهد. صمغ لوبیای خرنوب و زانتان با میسل‌های کازیینی شیر شتر شبکه مستحکمی تشکیل داده، که موجب به دام انداختن مولکول‌های آب می‌گردد. با حضور این دو صمغ در تولید ماست، این محصولات از ظرفیت نگهداری آب بالایی برخوردار می‌باشند. گذشت زمان نیز به‌عنوان یک عامل نامطلوب عمل کرده و با افزایش مدت نگهداری محصول، ظرفیت نگهداری آب و تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده مانده در آن‌ها کاسته می‌شود. شرایط بهینه برای تولید ماست سین‌بیوتیک از شیر شتر با 1/9% چربی و تلقیح 0/5% از باکتری‌های آغازگر پروبیوتیک به همراه افزودن بهینه میزان β-گلوکان (1/82%) و صمغ زانتان (0/3%) و صمغ لوبیای خرنوب (0/21%) شاهد حداکثر ظرفیت نگهداری آب (68/11%) و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک ($9/2\times10^7$ cfu/mL) می‌باشد.

منابع

فرجی، ن.، علیزاده خالد آبادی، م.، خسروشاهی اصل، ا. و فرجی، س.، 1391، بهینه سازی فرآیند تولید ماست پروبیوتیک کم‌چرب با استفاده از طرح مرکب (combined design)، نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران، 8 (2)، 121-136.

لاجوردی، ژ.س.، یارمند، م.س.، امام جمعه، ز. و نیاسری نسلجی، ا.، 1393، امکان سنجی تولید ماست فراسودمند سین‌بیوتیک از شیر شتر با استفاده از β-گلوکان جودوسر، مجله مهندسی بیوسیستم ایران، در دست چاپ.

نیاسری نسلجی، ا.، عربها، ه.، اتک پور، ا.ب.ب.، سلامی، م. و موسوی موحد، ع.ا.،1390، نقش شیر شتر و ملکول های زیست فعال آن در درمان بیماری‌ها، مجله نشاعلم، 1، 20-24.

Bahrami, M., Ahmadi, D., Alizadeh, M. & Hosseini, F. S., 2013, Physicochemical and Sensorial Properties of Probiotic Yogurt as Affected by Additions of Different Types of Hydrocolloid. *Korean Journal of Food Science*, 33(3), 363-368.

Campolongo, R. M., Stefano, C., Alexa, A. L., Andrea, M. & Torreggiani, D., 2005, Structure–property relationships in osmo-air-dehydrated apricot cubes. *Food Research International*, 38 533–542

Decourcellea, N., Lubbersa, S., Valletb, N., Rondeaub, P. & Guichard, E., 2004, Effect of thickeners and sweeteners on the release of blended aroma compounds in fat-free stirred yoghurt during shear conditions. *International Dairy Journal*, 14 783–789.

El-Salam, A. M. H., El-Etriby, M. H. & Shahein, N. M., 1996, Influence of some stabilizer on some chemical and physical properties of yoghurt. *Egypt Journal of Dairy Science*, 24, 25.

El-Sayed, E. M., El-Gawad, I. A. A., Murad, H. A. & Salah, S. H., 2002, Utilization of laboratory-produced xanthan gum in the manufacture of yogurt and soy yogurt. *European Food Research and Technology*, 215 298-304.

Figueroa, E. R., Salgado-Cervantes, M. A., Rodriguez, G. C. & Garcia, H. S., 2002, Addition of hydrocolloids to improve the functionality of spray-dried yoghurt. *Milchwissenschaft*, 57(2) 87–89.

Garcia-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A. & Gomez, E., 2000, Xanthan gum: production, recovery, properties. *Biotechnology Advances*, 18, 549–579.

Guzel-Seydim, Z. B., Sezgin, E. & Seydim, A. C., 2005, Influences of exopolysaccharide producing cultures on the quality of plain set type yogurt. *Food Control*, 16, 205-209.

Hansen, P. M. T., 1993, Food hydrocolloids in the dairy industry. In K. Nishinari, & E. Doi (Eds.), Food hydrocolloids: structures, properties and functions. New York*: Plenum Press*, 211–224.

Hematyar, N., Mohagheghi Samarin, A., Poor Azarang, H. & Elhamirad, A. H., 2012, Effect of gums on yogurt characteristics. *World Applied Sciences Journal*, 20(5), 661-665.

Jasim, A. & Ramaswamy, H.S., 2004, Effect of high-hydrostatic pressure and concentration on rheological characteristics of xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 18, 367–373.

Kearney, N., Stack, H. M., John, T., Tobin, J. T., Chaurin, V., Fenelon, M. A., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P. & Stanton, C., 2011, Lactobacillus Paracasei NFBC 338 producing recombinant beta-glucan positively influences the functional properties of yoghurt. *International Dairy Journal*, 21, 561-567.

Langendorff, V., Cuvelier, G., Launay, B. & Parker, A., 1997, Gelation and flocculation of casein micelle/carrageenan mixtures. *Food Hydrocolloids*, 11(1), 35–40.

Langendorff, V., Cuvelier, G., Launay, B., Michon, C., Parker, A. & De Kruif, C. G., 1999, Casein micelle/iota carrageenan interactions in milk: influence of temperature. *Food Hydrocolloids*, 13(3), 211–218.

Lucey, J. A., 2002, Formation and physical properties of milk protein gels. Journal of Dairy Science, 85(2) 281–294.

Marcotte, M., Taherian, A. R. & Ramaswamy, H. S., 2001, Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. *Food Research International*, 34, 695–703.

Maroziene, A. & De Kruif, C. G., 2000, Interaction of pectin and casein micelles. Food Hydrocolloids, 14, 391–394.

Moura, F. A., Pereira, J. M., Silva, D. O., Zavareze, E. R., Moreira, A. S., Helbig, E. & Dias, A. R. G., 2011, Effects of oxidative treatment on the physicochemical, rheological and functional properties of oat β-glucan. *Food Chemistry*, 128, 982–987.

Nasirpour, A., 2013, Food Hydrocolloids (food formulation course and Phd course), 1-18.

Norton, S. & Lacroix, C., 1990, Gellan gum gel as entrapment matrix for high temperature fermentation processes: a rheology *Biotechnology Technology*, 4, 351–356.

Purwandari, U., Shah, N. P. & Vasiljevic, T., 2007, Effects of exopolysaccharide producing strains of Streptococcus thermophiles on technological and rheological properties of set-type yoghurt. *International Dairy Journal*, 17, 1344-1352.

Ramirez-Figueroa, E., Salgado-Cervantes, M. A., Rodriguez, G. C., & Garcia, H. S., 2002, Addition of hydrocolloids to improve the functionality of spray-dried yoghurt. *Milchwissenschaft*, 57(2), 87–89.

Robitaille, G., Tremblay, A., Moineau, S., St-Gelais, D., Vadeboncoeur, C. & Britten, M., 2009, Fat-free yogurt made using a galactose-positive exopolysaccharide producing recombinant strain of Streptococcus thermophilus. *Journal of Dairy Science*, 92, 477-482.

Sahan, N., Yasar, K. & Hayaloglu, A. A., 2008, Physical, chemical and flavour quality of non-fat yoghurt as affected by a β-glucan hydrocolloid composite during storage. *Food Hydrocolloid*, 22, 1291–1297.

Sanchez, C., Zuniga-Lopez, R., Schmitt, C., Despond, S. & Hardy, J., 2000, Microstructure of acid induced skim milk (locust bean gum) xanthan gels. *International Dairy Journal*, 10, 199-212.

Sanderson, G. R., 1990, Gellan gum. In: Harris, P. (Ed.) Food Gels. Elsevier, New York, 201–233.

Syrbe, A., Bauer, W. J. & Klostermeyer, H., 1998, Polymer science concepts in dairy systems—an overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal*, 8(3), 179–193.

Theuwissen, E. & Mensink, R. P., 2008, Water-soluble dietary fibers and cardiovascular disease. *Physiology & Behavior*, 94, 285-292.

Urlacher, B. & Noble, O., 1997, Xanthan gums, Thickening and gelling agents for food London, UK: *Blackie Academic & Professional*, 284–312.

Van-Vliet, T., Van Dijk, H. J. M., Zoon, P. & Walstra, P., 1991, Relation between syneresis and rheological properties of particle gels. *Colloid and Polymer Science*, 269(6), 620–627.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 16, No. 1, Apr. May. 2020, p. 131- 143

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 16، شماره 1،فروردین -اردیبهشت 1399 ص.143-131

Synergistic effect of locust bean and xanthan gum on viability of probiotic bacteria and water holding capacity of synbiotic yogurt from camel milk

Zh. Sadat Ladjevardi1, M. S. Yarmand[2], Z. Emam-Djome[3], A. Niasari-Naslaji

Received: 2015.10.07
Accepted: 2017.01.09

Introduction: In recent decays, consumers have more information about foods. Vegetables, crops and other natural food with high nutritional value replace hazardous substances. In this study, the effects of locust bean gum and xanthan gum with β-glucan were investigated in camel synbiotic yogurt functional. Locust bean gum (LBG) has about 88% of galactose and mannose, 4% other polysaccharides, 6% protein, 1% cellulose and 1% the ashes (Nasirpour, 2013; Hansen, 1993).

Xanthan gum is an extracellular polysaccharide produced by *Compestris Xanthomonas* in aerobic fermentation process. Xanthan reactions synergies with guar and LBG, so the low concentrations in the presence of LBG viscosity increase (Ramirez-Figueroa et al., 2002).

In this study, the oats β-glucan inoculated with probiotic bacteria to camel milk for production of functional synbiotic yogurt was employed. The camel milk has high nutritional value such as insulin-like substance, less lactose, immuno-globulins and lactoferrin, antioxidants and antimicrobial agents and other nutrients (ladjevardi et al., 2015; Niasari Naslaji et al., 2011). Synbiotic dairy product made from combinations of probiotic bacteria with prebiotics agent (β-glucan). About 10^8- 10^7 cfu/mL of live bacteria should be in the final products (Faraj et al., 2012). β-glucan is an indigestible carbohydrate complicated (Theuwissen & Mensink, 2008) with very high nutritional properties, including improved intestinal activity (fibers), lowering uric acid blood, stimulating the immune system (Xue et al., 2013; Chao et al., 2013).

Materials and Methods: At first, camel milk (from Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran) was standardized by centrifugation (Universal 320, Hettich, Tuttlingen, Germany) to 1.9% fat content. Then xanthan gum and locust bean gum (1:1) were added in three level 0.1, 0.2 and 0.3%. β-glucan (extracted from oats as described by Moura et al. (2011)) in 1.5, 2 and 2.5% levels was added to milk. Camel milk was homogenized with ultra-turrax blender (T25, IKA, Staufen, Germany) in speed 9000 r.p.m. Then, the milk sample was pasteurized for 15 min at 75±1 °C. Samples were prepared by adding yogurt starter culture (1.5%) containing probiotic microorganisms (ABY1, Cristian Hansen, Hørsholm, Denmark) at 42 °C. The mixtures were redistributed into 50 mL sterile plastic cups, incubated at 42 °C until their pH decreased to 4.6, they cooled and stored at 4±1 °C (Mazloomi et al. 2011).

Determination of water-holding Capacity (WHC)

5 g of yogurt was centrifuged (Mikro 220R, Hettich, Tuttlingen, Germany) at 4500 r.p.m. for 30 min at 10°C. After centrifugation, the supernatant was removed and the pellet was collected and weighed.

Microbial Analyses

1 g of yogurt with 9 mL of normal saline (a solution of 0.9 % (w/v) NaCl (Merck, Darmstadt, Germany)) was mixed and diluted to a concentration of 10^6 and 10^7, and then 1 mL of each dilution was repeated in 2 plate containing the MRS-Agar (Merck, Darmstadt, Germany) with 0.15% Bovin-Bile (Sigma-Aldrich, Louis, MO, USA). Bacteria were counted by the pour plate technique. The plates in duplicates were incubated anaerobically at 37 °C for 72 h, after this period, colonies were counted (Mishra and Mishra 2012).

Statistical Analysis

The response surface methodology (RSM) and ANOVA ($p<0.05$) were used for data analysis using Design Expert 8 (Version 8.0.7.1, Minneapolis, MN, U.S.A) software. The experiment was designed according to central composite design (CCD). All experiments and measurements were conducted in triplicate, mean value ±sd are reported.

1, 2 and 3. MSc Student, Assistant professor and Professor, Department of Food Science & Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran
4. Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
(*- Corresponding Author Email: emamj@ut.ac.ir)

Result and discussion

Water-Holding Capacity (WHC)

Changes of xanthan gum, LBG, β-glucan and time storage have a significant effect on the WHC. Increasing the percentage of LBG, xanthan gum and the percentage of β-glucan significantly increased the WHC. Time storage reduced the WHC similar results of Ladjevardi et al. (2015) and Sahan et al. (2008).

According ANOVA table, the products had maximum water holding capacity at the highest percentage of LBG and xanthan gum. The percentage of xanthan gum and β-glucan increased water holding capacity. These factors (LBG and xanthan gum, xanthan gum and β-glucan) have a synergistic effect on each other mutually.

Xanthan gum and LBG showed interaction effect with time storage on changes in WHC including maximum water retention in the sample tissue, the high percentage of gums and the early days of production.

Viability of probiotic bacteria

Viability of probiotic bacteria significantly increased when used from high percentage of β-glucan (as a prebiotic agent) in synbiotic yogurt. This change was related to increasing food for probiotic bacteria (Kearney et al., 2011). According to the results mentioned a good environment for the growth and activity of the microorganisms (ladjevardi et al., 2015). The unfavorable conditions in production of synbiotic yogurt, was time duration. During storage, the number of probiotic bacteria that are present in the product is reduced Xanthan gum and LBG have no significant effect on viability of probiotic bacteria

Xanthan gum and time storage have interaction effect on the viability of probiotics bacteria. As expected, the best conditions for probiotic bacteria to maintain a high percentage of xanthan gum was at the early days of the sample production ((Norton and Lacroix, 1990; Sanderson, 1990).

According to the results, it was found that gums such as xanthan gum and LBG showed similar results to those of El-Salamt et al. (1996) and Hematyar et al. (2012) and had adverse influence on the growth and activity of beneficial bacteria.

Keywords: xanthan gum, locust bean gum, β-glucan, yogurt, camel milk